

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 05-222100

(43)Date of publication of application : 31.08.1993

(51)Int.Cl.

C07K 15/20

A61K 7/06

C08H 1/06

(21)Application number : 04-028284

(71)Applicant : SAN ORIENT KAGAKU KK

(22)Date of filing : 14.02.1992

(72)Inventor : MIZUMORI ISAMU
SUZUKI MITSURU

(54) PRODUCTION OF REDUCED-TYPE KERATIN PEPTIDE

(57)Abstract:

PURPOSE: To efficiently provide a reduced-type keratin peptide 300-2000 in average molecular weight rich in amino, carboxyl and mercapto groups.

CONSTITUTION: Keratin protein is hydrolyzed with a technique using an acid, alkali or protease into an oligomer (300-2000 in average molecular weight), which is then either electrically reduced or reduced with a reducing agent such as sodium sulfide, thioglycolic acid, cysteine, or N-acetyl-L-cysteine, thus obtaining the objective reduced-type keratin peptide.

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-222100

(43)公開日 平成5年(1993)8月31日

| (51)IntCl. ⁵ | 識別記号 | 庁内整理番号 | FI | 技術表示箇所 |
|-------------------------|------|---------|----|--------|
| C 0 7 K 15/20 | | 7731-4H | | |
| A 6 1 K 7/06 | | 8615-4C | | |
| C 0 8 H 1/06 | NVD | 8215-4J | | |

審査請求 有 請求項の数2(全 4 頁)

(21)出願番号 特願平4-28284

(22)出願日 平成4年(1992)2月14日

(71)出願人 391062883

サン・オリエント化学株式会社

奈良県磯城郡川西町大字梅戸103番地

(72)発明者 水森 勇

奈良県磯城郡川西町大字梅戸103番地 サ

ン・オリエント化学株式会社内

(72)発明者 鈴木 満

奈良県磯城郡川西町大字梅戸103番地 サ

ン・オリエント化学株式会社内

(74)代理人 弁理士 鎌田 文二 (外2名)

(54)【発明の名称】 還元型ケラチンペプチドの製造方法

(57)【要約】

【目的】 本発明は、還元型ケラチンペプチドを、アミノ基、カルボキシル基およびメルカプト基を豊富に含んだ状態で平均分子量300~2000のものとして、このものを効率よく製造する。

【構成】 ケラチン蛋白を、酸、アルカリ、プロテアーゼを用いた手法で、加水分解して低分子量化(平均分子量300~2000)した後、これを電気的還元または硫化ナトリウム、チオグリコール酸、システイン、N-アセチル-L-システイン等の還元剤を用いて還元し、還元型ケラチンペプチドを製造する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ケラチン蛋白を加水分解により低分子量化した後、これを還元してメルカプト基含有の平均分子量300~2000のケラチンペプチドとする還元型ケラチンペプチドの製造方法。

【請求項2】 前記還元する際、還元剤としてN-アセチル-L-システインを用いる請求項1記載の還元型ケラチンペプチドの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 この発明は、毛髪保護剤、毛髪処理剤または羊毛繊維製品の処理剤等に適用される還元型ケラチンペプチドの製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 一般に、毛髪、羊毛、羽毛、角、つめおよびひづめなどの構造蛋白質であるケラチンは、これらの原材料を熱水、熱有機溶媒等で洗浄した後、プロテアーゼを用いた分解処理により随伴する他種の蛋白質を消化除去した残留物として得られることが知られている。

【0003】 このようなケラチンは、ポリペプチド鎖同士がジスルフィド結合-S-S-を有するシステインを介して連結しており、網目構造を形成しているものである。したがって、上記ジスルフィド結合を還元分解したケラチンペプチドは、メルカプト基を有するため、毛髪への吸着性に優れ、毛髪保護剤または羊毛繊維製品のシルセッド加工剤として有用である。

【0004】 上記ケラチンペプチドは、前記ケラチンを硫化ソーダ、チオグリコール酸等と共にアルカリ領域で還元溶解して分子量10000~20000のケラチン分子とし、これをさらに透析後、加水分解酵素により

【0005】

【発明が解決しようとする課題】 しかし、上記したケラチンペプチドの製造方法では、ポリペプチド鎖を分解しない状態でケラチンを還元した後、プロテアーゼで加水分解し、その後に濃縮および酵素失活のための加熱処理又はpH移動を行なうので、一旦還元されたメルカプト基が酸化されたり、他の官能基と化合したりし易く、毛髪等に有効に作用し得るメルカプト基が充分量得られないという問題点がある。また、上記方法では、ケラチン蛋白の分解剤として加水分解酵素を使用するため、酵素の特性上ケラチンペプチドの分子量を2000以下まで下げることは殆ど不可能であり、それだけ毛髪への吸着に有利とされるアミノ基及びカルボキシル基の絶対量が不足するという欠点があった。

【0006】 さらにまた、この方法ではケラチンを還元しつつ溶解させる際に、一定量以上のケラチン蛋白を溶解させることが非常に困難であり、さらに透析過程において希釈されるので、最終的なケラチンペプチド濃度は極めてひくいものにならざるをえないという問題点がある。

ある。

【0007】 この発明は、上記した問題点を解決し、アミノ基、カルボキシル基およびメルカプト基を豊富に含み、平均分子量300~2000分画から成る還元型ケラチンペプチドを効率よく製造することを課題としている。

【0008】

【課題を解決するための手段】 上記の課題を解決するため、この発明においては、ケラチン蛋白を加水分解して低分子量化した後、これを還元してメルカプト基含有の平均分子量300~2000のケラチンペプチドとする手段を採用したのである。

【0009】 また、前記還元する際、還元剤としてN-アセチル-L-システインを用いることもできる。以下、その詳細を述べる。

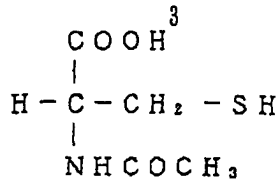
【0010】 この発明に用いるケラチンは、原材料を特に限定することなく採用したものであってよく、そのような原材料としては、毛髪、羊毛、羽毛、豚毛、角、つめ、ひづめ等を例示することができる。

【0011】 つぎに、この発明における加水分解とは、ケラチン蛋白のポリペプチド鎖を酸、アルカリ、蛋白質分解酵素等にて分解することをいい、たとえば、酸としては塩酸、硫酸、硝酸等が挙げられ、アルカリとしては、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化バリウム等であってよく、蛋白質分解酵素としては、プロテアーゼ、ケラチナーゼ等が挙げられる。上記した加水分解において、ケラチンペプチドを平均分子量300~2000に分解する。なぜなら、平均分子量が300未満とすれば、遊離アミノ酸の占める割合が高くなり、2000を越える平均分子量では、アミノ基及びカルボキシル基の絶対量が不足して毛髪等への吸着性が充分に得られないからである。さらに、酸、アルカリで上記加水分解を行なった場合には、その後に中和し、酵素を用いた場合には、その後、失活処理を行なうのはもちろんである。具体的には、塩酸によりケラチン蛋白の加水分解を行なった場合には、水酸化ナトリウムでpH4~5に中和した後、脱塩処理によって塩化ナトリウムを除去し、10~30重量%のケラチンペプチドとする。

【0012】 また、この発明における還元の手法としては、電気的還元または無機還元剤もしくは有機還元剤を用いるものであってよい。このような還元剤としては、硫化ナトリウム等の各種硫化物、チオグリコール酸、システイン、アセチルシステインまたはこれらの一種以上の混合物が例示できる。このうち、下記の【化1】の式で示されるN-アセチル-L-システインは、これを単独でまたは前記他の還元剤と併用すれば、還元後の結晶生成が起らず、経時的にも安定であることが判明している。

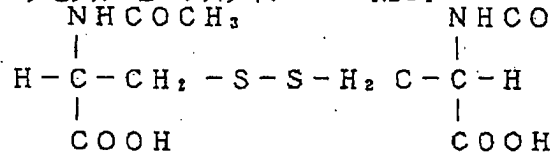
【0013】

【化1】



【0014】加水分解されたケラチンペプチドに、

【化1】の式で示されるN-アセチル-L-システイン*



【0016】

【作用】この発明の還元型ケラチンペプチドの製造方法は、まず、適当な加水分解の手法で、ケラチン蛋白のポリペプチド鎖を分断して300~2000の低分子量ペプチドを調製し、その後還元するので、ケラチンペプチドの還元反応が最終の工程となる。したがって、ケラチンの還元後に濃縮、中和、分解及び失活処理を行わなければならない従来法にくらべ還元されたケラチンペプチドのメルカプト基ははるかに安定であり、アミノ基及びカルボキシル基を豊富に含む平均分子量300~2000の分画より成る還元型ケラチンペプチドが得られる。

【0017】

【実施例】

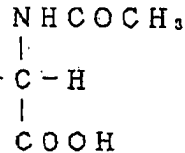
【実施例1~3】1リットルビーカー中にケラチン原料(毛髪)200gを取り、濃塩酸200ml及び水200mlを加え、ウォーターバス中で5.0~100℃に加熱しながら2~5時間攪はんを続けてケラチンを加水分解した後、30℃まで冷却し苛性ソーダ80gを除々に加え、pH4~6に中和した。得られた分解物を減圧式ろ過器によりろ過して不溶解物を除いた後、ろ液に水400mlを加え、電気透析器(旭硝子:DU-Ob)を用いて分解液中の塩化ナトリウム濃度が1%以下となるまで透析を続け、乾燥減量が79.5%であるケラチン

4

*を作用させると、ケラチンペプチドとN-アセチル-L-システインとの間に酸化還元反応が起こり、同時にN-アセチル-L-システインは酸化されて、下記【化2】の式で示されるN, N'-ジアセチル-L-システインとなり、ケラチンペプチド中のジスルフィド結合-S-S-は開裂してメルカプト基を生じる。

【0015】

【化2】



加水分解液600mlを得た。分解物の一部を取って濃塩酸によりアミノ酸まで完全分解し、アミノ酸自動分析器(柳本製作所製;LC-8A)によりシステイン量を求めると2.5%であった。

【0018】次いで、200mlビーカーにケラチン加水分解物100mlを取り、攪はんしながらN-アセチルシステインを表1に示す配合割合で加えて20~30℃で1時間攪はんし、ケラチン加水分解物を還元させた。反応終了後、還元型ケラチンペプチドの一部を取り、ヨウ素滴定法により液中の-SH基の濃度を求めた。また、別に一部をとり高速液体クロマトグラフ(柳本製作所製:L-6000, カラム:yanapakODS-T)によりN-アセチルシステインを定量しアセチルシステイン由来の-SH基濃度を求めた。

【0019】そして、前者から後者の測定値を減算してケラチン加水分解物中の-SH基濃度を求め、さらにこれをシステインに換算して、全システイン残基中の還元割合(%)を求めた。さらにまた、前記ケラチンペプチドの一部をとり、分子量測定装置(柳本製作所製:L-4000S)により重量平均分子量を求めた。得られた結果は全て表1中に併記した。

【0020】

【表1】

| 番 号 項 目 | 実 施 例 | | |
|---------------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| | 1 | 2 | 3 |
| N-アセチルシステインの 添加量(g) | 1 | 3 | 5 |
| SH基濃度(%) | 0.20 | 0.58 | 0.95 |
| N-アセチルシステイン 由来 の SH基濃度(%) | 0.02 | 0.12 | 0.36 |
| ケラチン加水分解物中 の SH基濃度(%) (システイン換算) | 0.18 (0.66) | 0.46 (1.69) | 0.59 (2.16) |
| 全システイン 残基中の 還元割合(%) | 26 | 67 | 86 |
| 還元型ケラチンペプチド の重量平均分子量 | 300~ 600 | 300~ 600 | 300~ 600 |

【0021】

【効果】この発明は、以上説明したように、ケラチン蛋白を酸、アルカリなどにより加水分解して得られるケラチン加水分解物に各種還元剤を作用させ、これを還元型のケラチンペプチドとする方法であるから、毛髪等へ

の吸着性の良好な状態、すなわち分子量2000以下の低分子量でしかも充分量のメルカプト基が含有された状態で還元型ケラチンペプチドを製造することができる利点があり、しかも最終工程の濃度も高いので生産効率も優れた製造方法であるといえる。

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 05-222100

(43)Date of publication of application : 31.08.1993

(51)Int.Cl.

C07K 15/20

A61K 7/06

C08H 1/06

(21)Application number : 04-028284

(71)Applicant : SAN ORIENT KAGAKU KK

(22)Date of filing : 14.02.1992

(72)Inventor : MIZUMORI ISAMU
SUZUKI MITSURU

(54) PRODUCTION OF REDUCED-TYPE KERATIN PEPTIDE

(57)Abstract:

PURPOSE: To efficiently provide a reduced-type keratin peptide 300-2000 in average molecular weight rich in amino, carboxyl and mercapto groups.

CONSTITUTION: Keratin protein is hydrolyzed with a technique using an acid, alkali or protease into an oligomer (300-2000 in average molecular weight), which is then either electrically reduced or reduced with a reducing agent such as sodium sulfide, thioglycolic acid, cysteine, or N-acetyl-L-cysteine, thus obtaining the objective reduced-type keratin peptide.

(19)日本国特許庁(J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-222100

(43)公開日 平成5年(1993)8月31日

| (51)Int.Cl. ⁵ | 識別記号 | 庁内整理番号 | F I | 技術表示箇所 |
|--------------------------|------|---------|-----|--------|
| C 0 7 K 15/20 | | 7731-4H | | |
| A 6 1 K 7/06 | | 8615-4C | | |
| C 0 8 H 1/06 | NVD | 8215-4J | | |

審査請求 有 請求項の数2(全 4 頁)

| | | | |
|----------|-----------------|---------|---|
| (21)出願番号 | 特願平4-28284 | (71)出願人 | 391062883 サン・オリエント化学株式会社 奈良県磯城郡川西町大字梅戸103番地 |
| (22)出願日 | 平成4年(1992)2月14日 | (72)発明者 | 水森 勇 奈良県磯城郡川西町大字梅戸103番地 サ ン・オリエント化学株式会社内 |
| | | (72)発明者 | 鈴木 満 奈良県磯城郡川西町大字梅戸103番地 サ ン・オリエント化学株式会社内 |
| | | (74)代理人 | 弁理士 鎌田 文二 (外2名) |

(54)【発明の名称】 還元型ケラチンペプチドの製造方法

(57)【要約】

【目的】 本発明は、還元型ケラチンペプチドを、アミノ基、カルボキシル基およびメルカプト基を豊富に含んだ状態で平均分子量300~2000のものとして、このものを効率よく製造する。

【構成】 ケラチン蛋白を、酸、アルカリ、プロテアーゼを用いた手法で、加水分解して低分子量化(平均分子量300~2000)した後、これを電氣的還元または硫化ナトリウム、チオグリコール酸、システイン、N-アセチル-L-システイン等の還元剤を用いて還元し、還元型ケラチンペプチドを製造する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ケラチン蛋白を加水分解により低分子量化した後、これを還元してメルカプト基含有の平均分子量300～2000のケラチンペプチドとする還元型ケラチンペプチドの製造方法。

【請求項2】 前記還元する際、還元剤としてN-アセチル-L-システインを用いる請求項1記載の還元型ケラチンペプチドの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 この発明は、毛髪保護剤、毛髪処理剤または羊毛繊維製品の処理剤等に適用される還元型ケラチンペプチドの製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 一般に、毛髪、羊毛、羽毛、角、つめおよびひづめなどの構造蛋白質であるケラチンは、これらの原材料を熱水、熱有機溶媒等で洗浄した後、プロテアーゼを用いた分解処理により随伴する他種の蛋白質を消化除去した残留物として得られることが知られている。

【0003】 このようなケラチンは、ポリペプチド鎖同士がジスルフィド結合-S-S-を有するシステインを介して連結しており、網目構造を形成しているものである。したがって、上記ジスルフィド結合を還元分解したケラチンペプチドは、メルカプト基を有するため、毛髪への吸着性に優れ、毛髪保護剤または羊毛繊維製品のシルセッ加工剤として有用である。

【0004】 上記ケラチンペプチドは、前記ケラチンを硫化ソーダ、チオグリコール酸等と共にアルカリ領域で還元溶解して分子量10000～20000のケラチン分子とし、これをさらに透析後、加水分解酵素により

【0005】

【発明が解決しようとする課題】 しかし、上記したケラチンペプチドの製造方法では、ポリペプチド鎖を分解しない状態でケラチンを還元した後、プロテアーゼで加水分解し、その後に濃縮および酵素失活のための加熱処理又はpH移動を行なうので、一旦還元されたメルカプト基が酸化されたり、他の官能基と化合したりし易く、毛髪等に有効に作用し得るメルカプト基が充分量得られないという問題点がある。また、上記方法では、ケラチン蛋白の分解剤として加水分解酵素を使用するため、酵素の特性上ケラチンペプチドの分子量を2000以下まで下げることは殆ど不可能であり、それだけ毛髪への吸着に有利とされるアミノ基及びカルボキシル基の絶対量が不足するという欠点があった。

【0006】 さらにまた、この方法ではケラチンを還元しつつ溶解させる際に、一定量以上のケラチン蛋白を溶解させることが非常に困難であり、さらに透析過程において希釈されるので、最終的なケラチンペプチド濃度は極めてひくいものにならざるをえないという問題点が

ある。

【0007】 この発明は、上記した問題点を解決し、アミノ基、カルボキシル基およびメルカプト基を豊富に含み、平均分子量300～2000分画から成る還元型ケラチンペプチドを効率よく製造することを課題としている。

【0008】

【課題を解決するための手段】 上記の課題を解決するため、この発明においては、ケラチン蛋白を加水分解して低分子量化した後、これを還元してメルカプト基含有の平均分子量300～2000のケラチンペプチドとする手段を採用したのである。

【0009】 また、前記還元する際、還元剤としてN-アセチル-L-システインを用いることもできる。以下、その詳細を述べる。

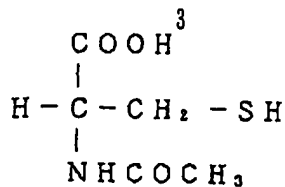
【0010】 この発明に用いるケラチンは、原材料を特に限定することなく採用したものであってよく、そのような原材料としては、毛髪、羊毛、羽毛、豚毛、角、つめ、ひづめ等を例示することができる。

【0011】 つぎに、この発明における加水分解とは、ケラチン蛋白のポリペプチド鎖を酸、アルカリ、蛋白質分解酵素等にて分解することをいい、たとえば、酸としては塩酸、硫酸、硝酸等が挙げられ、アルカリとしては、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化バリウム等であってよく、蛋白質分解酵素としては、プロテアーゼ、ケラチナーゼ等が挙げられる。上記した加水分解において、ケラチンペプチドを平均分子量300～2000に分解する。なぜなら、平均分子量が300未満とすれば、遊離アミノ酸の占める割合が高くなり、2000を越える平均分子量では、アミノ基及びカルボキシル基の絶対量が不足して毛髪等への吸着性が充分に得られないからである。さらに、酸、アルカリで上記加水分解を行なった場合には、その後に中和し、酵素を用いた場合には、その後、失活処理を行なうのはもちろんである。具体的には、塩酸によりケラチン蛋白の加水分解を行なった場合には、水酸化ナトリウムでpH4～5に中和した後、脱塩処理によって塩化ナトリウムを除去し、10～30重量%のケラチンペプチドとする。

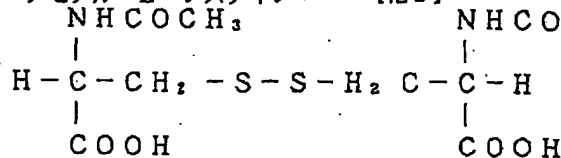
【0012】 また、この発明における還元の手法としては、電気的還元または無機還元剤もしくは有機還元剤を用いるものであってよい。このような還元剤としては、硫化ナトリウム等の各種硫化物、チオグリコール酸、システイン、アセチルシステインまたはこれらの一種以上の混合物が例示できる。このうち、下記の【化1】の式で示されるN-アセチル-L-システインは、これを単独でまたは前記他の還元剤と併用すれば、還元後の結晶生成が起らず、経時的にも安定であることが判明している。

【0013】

【化1】



【0014】加水分解されたケラチンペプチドに、
 【化1】の式で示されるN-アセチル-L-システイン*



【0016】

【作用】この発明の還元型ケラチンペプチドの製造方法は、まず、適当な加水分解の手法で、ケラチン蛋白のポリペプチド鎖を分断して300~2000の低分子量ペプチドを調製し、その後還元するので、ケラチンペプチドの還元反応が最終の工程となる。したがって、ケラチンの還元後に濃縮、中和、分解及び失活処理を行わなければならない従来法にくらべ還元されたケラチンペプチドのメルカプト基ははるかに安定であり、アミノ基及びカルボキシル基を豊富に含む平均分子量300~2000の分画より成る還元型ケラチンペプチドが得られる。

【0017】

【実施例】

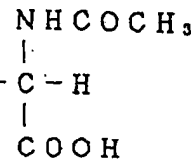
【実施例1~3】1リットルビーカー中にケラチン原料（毛髪）200gを取り、濃塩酸200ml及び水200mlを加え、ウォーターバス中で50~100℃に加熱しながら2~5時間攪はんを続けてケラチンを加水分解した後、30℃まで冷却し苛性ソーダ80gを除々に加え、pH4~6に中和した。得られた分解物を減圧式ろ過器によりろ過して不溶解物を除いた後、ろ液に水400mlを加え、電気透析器（旭硝子：DU-Ob）を用いて分解液中の塩化ナトリウム濃度が1%以下となるまで透析を続け、乾燥減量が79.5%であるケラチン

4

*を作用させると、ケラチンペプチドとN-アセチル-L-システインとの間に酸化還元反応が起こり、同時にN-アセチル-L-システインは酸化されて、下記【化2】の式で示されるN, N'-ジアセチル-L-システインとなり、ケラチンペプチド中のジスルフィド結合-S-S-は開裂してメルカプト基を生じる。

【0015】

【化2】



加水分解液600mlを得た。分解物の一部を取って濃塩酸によりアミノ酸まで完全分解し、アミノ酸自動分析器（柳本製作所製；LC-8A）によりシスチン量を求めると2.5%であった。

【0018】次いで、200mlビーカーにケラチン加水分解物100mlを取り、攪はんしながらN-アセチルシステインを表1に示す配合割合で加えて20~30℃で1時間攪はんし、ケラチン加水分解物を還元させた。反応終了後、還元型ケラチンペプチドの一部をとり、ヨウ素滴定法により液中の-SH基の濃度を求めた。また、別に一部をとり高速液体クロマトグラフ（柳本製作所製：L-6000、カラム：yanapak ODS-T）によりN-アセチルシステインを定量しアセチルシステイン由来の-SH基濃度を求めた。

【0019】そして、前者から後者の測定値を減算してケラチン加水分解物中の-SH基濃度を求め、さらにこれをシステインに換算して、全システイン残基中の還元割合（%）を求めた。さらにまた、前記ケラチンペプチドの一部をとり、分子量測定装置（柳本製作所製：L-4000S）により重量平均分子量を求めた。得られた結果は全て表1中に併記した。

【0020】

【表1】

| 番 号 項 目 | 実 施 例 | | |
|--|----------------|----------------|----------------|
| | 1 | 2 | 3 |
| N-アセチルスチンの 添加量 (g) | 1 | 3 | 5 |
| SH基濃度 (%) | 0.20 | 0.58 | 0.95 |
| N-アセチルスチン 由来 の SH基濃度 (%) | 0.02 | 0.12 | 0.36 |
| ケラチン加水分解物中 の SH基濃度 (%) (システイン換算) | 0.18 (0.66) | 0.46 (1.69) | 0.59 (2.16) |
| 全システイン 残基中の 還元割合 (%) | 26 | 67 | 86 |
| 還元型ケラチンペプチド の重量平均分子量 | 300~ 600 | 300~ 600 | 300~ 600 |

【0021】

【効果】この発明は、以上説明したように、ケラチン蛋白を酸、アルカリなどにより加水分解して得られるケラチン加水分解物に各種還元剤を作用させ、これを還元型のケラチンペプチドとする方法であるから、毛髪等へ

の吸着性の良好な状態、すなわち分子量2000以下の低分子量でしかも充分量のメルカプト基が含有された状態で還元型ケラチンペプチドを製造することができる利点があり、しかも最終工程の濃度も高いので生産効率も優れた製造方法であるといえる。